

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل  
دانشکده داروسازی  
پایان نامه برای دریافت درجه دکترای داروسازی

عنوان:

# بررسی تاثیر لینالول در مهار آسیب‌های کلیوی ایجاد شده توسط تتراکلریدکربن در موش صحرایی نر

اساتید راهنما:

دکتر احمد سلیمی

دکتر لطفاله رضاقلی‌زاده

استاد مشاور:

دکتر محمد مازنی

نگارنده:

سعیده شمسی

شهریور ۹۹

تقدیم به آنان که همواره بودند، بی‌آنکه صدایشان کرده باشیم  
تقدیم به آنان که در فریادهایمان، سکوت کردند  
و در سکوتمان به فریادمان رسیدند  
و تقدیم به آنان که بی‌ادعا دوستان

دارند

پدر و مادر، خواهر و برادر  
و آنان که زمین را جای بهتری برای زیستن می‌کنند

## تشکر و قدردانی

حضور در محضر بزرگان افتخار بزرگی است و فرصتی است گرانقدر جهت اندوختن توشه‌ای از علم و تجربه.

خداوند را شاکرم که این افتخار را نصیب بنده فرمود تا در محضر انسان‌های عالی مرتبه و اساتید گرانقدر جناب آقای دکتر سلیمی و آقای دکتر رضاقلی‌زاده حضور داشته و زمانی را به شاگردی این بزرگواران بگذرانم.

از اساتید بزرگوارم به خاطر تمام آموزه‌ها و تجربیاتی که در اختیار بنده قرار دادند و صبر و تحملشان، صادقانه و از صمیم قلب متشکرم و یاری هرچه بیشتر خداوند منان را جهت ادامه این مسیر پربها برایشان مسئلت می‌دارم.

## چکیده

**مقدمه:** مطالعات نشان داده که تتراکلرید کربن ( $\text{CCl}_4$ ) موجب افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن در بسیاری از بافت ها نظیر کلیه و کبد می گردد. هدف از این تحقیق، بررسی تاثیرات محافظتی و درمانی لینالول در برابر سمیت کلیوی ناشی از تتراکلرید کربن در موش های صحرایی است.

**روش کار:** موش های صحرایی نر با سن هشت هفته به پنج گروه شش تایی تقسیم شدند. کنترل نرمال (با رژیم غذایی طبیعی)؛ کنترل لینالول (روزانه ۲۵ میلی گرم لینالول به ازای هر کیلوگرم وزن دریافت نمودند). کنترل تتراکلرید کربن (۱ میلی لیتر  $\text{CCl}_4$  به ازای هر کیلوگرم وزن رت در روز چهاردهم به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند). پیش درمان با لینالول؛ که  $25 \text{ mg/kg}$  از ترکیب لینالول از طریق گاواژ به مدت ۱۴ روز دریافت کردند و گروه سیلی مارین؛ که  $100 \text{ mg/kg}$  داروی سیلی مارین (به عنوان داروی استاندارد) از طریق گاواژ به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. در روز چهاردهم تمام حیوانات بیهوش شدند و نمونه خون و سرم به منظور آزمایشات بیوشیمیایی و بافتی برداشته شد.

**نتایج:** تزریق تتراکلرید کربن سبب افزایش قابل توجهی در مارکرهای کلیوی (اوره و کراتینین) شد. همچنین تتراکلرید کربن منجر به ایجاد آسیب های پاتولوژیک، افزایش معنی دار غلظت MDA و کاهش معنی دار سطح پروتئین کل و آلبومین سرم و آنتی اکسیدان ها شد. با این حال، در گروه های پیش درمان، لینالول به طور معنی داری آسیب ناشی از تتراکلرید کربن را کاهش داد.

**نتیجه گیری:** نتایج نشان داد که لینالول دارای اثرات محافظتی در مدل حیوانی آسیب کلیوی ناشی از تتراکلرید کربن است که می تواند به عنوان یک عامل درمانی موثر در برابر سمیت کلیوی ناشی از مواد شیمیایی و دارویی پیشنهاد شود.

**واژه های کلیدی:** تتراکلرید کربن، لینالول، آنتی اکسیدان، آسیب حاد کلیه، موش صحرایی نر

## فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول: مقدمه	
۱-۱- مقدمه، کلیه	۱
۱-۱-۲- آناتومی و فیزیولوژی کلیه	۱
۱-۱-۳- مکانیسم عملکرد کلیه	۲
۱-۱-۳-۱- بازجذب توبولی	۴
۱-۱-۳-۲- ترشح توبولی	۵
۱-۱-۳-۳- تنظیم هورمونی	۶
۱-۱-۳-۴- متابولیتهای آراشیدونیک اسید	۶
۱-۱-۳-۵- سیستم کالیکرئین-کینین	۷
۱-۱-۳-۶- اریتروپویتین	۷
۱-۱-۳-۷- ویتامین D <sub>3</sub>	۷
۱-۲- بیماریهای توبول کلیه	۷
۱-۲-۱- توبول پروگزیمال (PCT)	۸
۱-۲-۳- اختلال در فرآیند انتقال فعال	۸
۱-۲-۴- گلوکز	۸
۱-۲-۵- بیکربنات	۸
۱-۲-۶- سندروم فانکونی کلیه	۹
۱-۲-۷- لوپ هنله	۹
۱-۲-۸- سندروم بارتر	۱۰
۱-۲-۹- هیپومنیزمی فامیلی با هایپرکلسینوریا	۱۰
۱-۲-۱۰- توبول دیستال	۱۱
۱-۲-۱۱- سندروم گیتلمن	۱۱
۱-۲-۱۲- سندروم گوردون	۱۱
۱-۲-۱۳- مجرای جمع کننده	۱۱
۱-۲-۱۴- سندروم لیدل	۱۲
۱-۲-۱۵- سندروم افزایش مینرالوکورتیکوئید	۱۲
۱-۲-۱۶- شبه آلدسترونیزم نوع ۱ (PHA1)	۱۳
۱-۲-۱۷- دیابت نفروژنیک ارثی	۱۳
۱-۲-۱۸- دیابت مرکزی ارثی	۱۳

- ۱-۲-۱۹- سندروم ارثی ترشح هورمون آنتیدیورتیک و هایپوناترمی ..... ۱۴
- ۱-۳- داروهای ایجاد کننده نقص عملکرد کلیه ..... ۱۴
- ۱-۳-۱- ریسک فاکتورهای خاص برای سمیت کلیوی ..... ۱۴
- ۱-۳-۲- ریسک فاکتورهای مختص بیمار ..... ۱۵
- ۱-۳-۳- مروری بر نقص عملکرد کلیوی ناشی از دارو ..... ۱۶
- ۱-۳-۴- داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی ..... ۱۷
- ۱-۳-۵- مهارکننده‌های آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین و مهار گیرنده‌های آنژیوتانسین II ..... ۱۸
- ۱-۳-۶- سیکلوسپورین و تاکرولیموس ..... ۱۸
- ۱-۳-۷- عوامل ضد میکروبی ..... ۱۸
- ۱-۳-۸- سولفامتوکسازول-تریمتوپریم و آنتیبیوتیک‌های بر پایه سولفات ..... ۱۹
- ۱-۳-۹- ونکومايسين ..... ۲۰
- ۱-۳-۱۰- سیپروفلوکساسین ..... ۲۰
- ۱-۳-۱۱- داروهای ضد ویروس ..... ۲۱
- ۱-۳-۱۲- داروهای ضد رتروویروس ..... ۲۱
- ۱-۳-۱۳- داروهای ضد قارچ ..... ۲۱
- ۱-۳-۱۴- عوامل شیمی درمانی ..... ۲۲
- ۱-۳-۱۵- داروهای متفرقه ..... ۲۴
- ۱-۳-۱۶- راهکارهای کلی برای جلوگیری از اثرات دارو ..... ۲۵
- ۱-۴- نقش عناصر سمی در بیماری مزمن کلیه ..... ۲۷
- ۱-۴-۱- قرار گرفتن در معرض عناصر سمی و اثرات ناشی از انباشته شدن آنها ..... ۲۷
- ۱-۵- ترکیب و کاربرد حلالهای آلی ..... ۲۹
- ۱-۵-۱- متابولیسم حلالهای آلی ..... ۲۹
- ۱-۵-۲- اثرات عمومی حلالها ..... ۳۰
- ۱-۵-۳- اثرات کلیوی حلالها ..... ۳۱
- ۱-۶- لینالول ..... ۳۳
- ۱-۶-۱- داده‌های بیولوژیکی: جذب، توزیع و متابولیسم ..... ۳۶
- ۱-۶-۲- فارماکوکینتیک ..... ۳۶
- ۱-۶-۲-۱- مطالعات پوستی ..... ۳۶
- ۱-۶-۲-۲- مطالعات استنشاق ..... ۳۷
- ۱-۶-۲-۳- متابولیسم ..... ۳۷
- ۱-۶-۲-۴- متابولیسم لینالول در پستانداران ..... ۳۸
- ۱-۶-۲-۵- هیدرولیز لینالیل استات ..... ۳۹

۳۹	۱-۶-۲-۶- تست حساسیت پوستی لینالول
۴۰	۱-۷- تتراکلرید کرین
۴۱	۱-۸- بررسی متون و مروروی بر منابع
۴۴	۱-۱۰- سوالات و فرضیات تحقیق
	فصل دوم مواد، دستگاه‌ها و روش‌ها
۴۵	۲-۱- مواد و روش‌ها
۴۵	۲-۱-۱- مواد شیمیایی، تجهیزات و دستگاه‌های مورد استفاده
۴۶	۲-۲- روش اجرای طرح
۴۶	۲-۲-۱- چگونگی انتخاب حیوانات
۴۷	۲-۲-۲- نحوه‌ی ایجاد آسیب کلیوی
۴۷	۲-۲-۳- چگونگی گروه‌بندی حیوانات
۴۸	۲-۲-۴- آماده‌کردن حیوانات جهت خونگیری
۴۸	۲-۲-۵- خونگیری و انجام آزمایشات بیوشیمیایی
۵۰	۲-۲-۶- اندازه‌گیری فاکتورهای سرمی
۵۰	۲-۲-۶-۱- اندازه‌گیری اوره
۵۱	۲-۲-۶-۲- اندازه‌گیری اوریکاسید
۵۱	۲-۲-۶-۳- اندازه‌گیری کراتینین
۵۲	۲-۲-۶-۴- اندازه‌گیری ظرفیت آنتیاکسیدانی تام
۵۳	۲-۲-۶-۵- اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدهید MDA با روش دستی
۵۴	۲-۲-۶-۶- اندازه‌گیری پروتئین تام
۵۴	۲-۲-۶-۷- اندازه‌گیری آلبومین
۵۵	۲-۷- آنالیز آماری
	فصل سوم: نتایج
۵۶	۳-۱- مقدمه
۵۶	۳-۲- مقایسه میانگین آلبومین سرم در گروه‌های مورد مطالعه
۵۷	۳-۳- مقایسه میانگین توتال پروتئین در گروه‌های مورد مطالعه
۵۸	۳-۴- مقایسه میانگین اوره در گروه‌های مورد مطالعه
۵۹	۳-۵- مقایسه میانگین اوریک اسید در گروه‌های مورد مطالعه
۶۰	۳-۶- مقایسه میانگین کراتینین در گروه‌های مورد مطالعه
۶۱	۳-۷- مقایسه میانگین مالون‌دی‌آلدهید (MDA) بافتی در گروه‌های مورد مطالعه
۶۲	۳-۸- مقایسه میانگین توتال آنتیاکسیدان بافتی در گروه‌های مورد مطالعه
۶۳	۳-۹- بررسی هیستوپاتولوژی بافت کلیه در گروه‌های مورد مطالعه



فصل چهار: بحث و نتیجه‌گیری

۶۸.....	۴-۱- تاثیر لینالول بر روی ظرفیت آنتیاکسیدانی تام
۷۲ .....	۴-۲- نتیجه‌گیری
۷۳ .....	۴-۳- پیشنهادات
۷۴ .....	منابع و مآخذ

## فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۱: متغیرها.....	۴۴
جدول ۱-۲- لیست مواد شیمیایی مورد استفاده.....	۴۵
جدول ۲-۲- لیست تجهیزات و وسایل مورد استفاده.....	۴۶
جدول ۳-۲- لیست دستگاههای مورد استفاده.....	۴۶
۱-۳- مقایسه‌ی سطح فاکتورهای بیوشیمیایی (آلبومین، توتالپروتئین، اوره، اوریکاسید، کراتینین) و توتالآنتیاکسیدان و مالوندیآلدهید (MDA) بافتی در بین گروههای مورد مطالعه.....	۵۶

## فهرست نمودارها و عکس‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱-تامین شریانی کلیه.....	۲
شکل ۱-۲-نقل و انتقال منحصر به فرد و ساختار سلولی هر بخش از نفرون برای حفظ هموستاز (۱۹).....	۶
شکل ۱-۳-بیماریهای لوله‌های کلیوی.....	۹
شکل ۱-۴-فرمول ساختاری انانتیومر لینالول: (3S)- (+) -لینالول (سمت چپ) و (3R)- (-) -لینالول (راست) (37).....	۳۶
شکل ۱-۵-خلاصه‌ای از اثرات مختلف لینالول.....	۳۶
شکل ۱-۶-هیدرولیز لینالیل استات.....	۳۹
شکل ۲-۱-تزریق داخل صفاقی.....	۴۷
شکل ۲-۲-تزریق خوراکی لینالول (گاواژ).....	۴۸
شکل ۲-۳-نحوه خونگیری از قلب موش.....	۵۰
شکل ۲-۴-تصویری از موشها بعد از خونگیری و بازکردن محفظه شکمی جهت خارج کردن بافت کلیه.....	۵۰
شکل ۳-۱-اثر پیش درمان با لینالول بر روی میزان آلبومین سرم در موشهای آسیب دیده با تتراکلریدکربن.*** نشان دهنده معنادار بودن ( $P < 0/001$ ) گروه آسیب نسبت به گروه کنترل نرمال، ■■■ نشان دهنده معنادار بودن ( $P < 0/001$ ) گروه پیشدرمان با لینالول نسبت به گروه آسیب، NC: گروه کنترل نرمال. Lin-C: گروه کنترل لینالول، CC: گروه آسیب با تتراکلرید کربن، Lin: گروه پیشدرمان با لینالول و Sil: گروه پیشدرمان با سیلیمارین. ....	۵۷
شکل ۳-۲-اثر پیش درمان با لینالول بر روی میزان توتال پروتئین سرم در موشهای آسیب دیده با تتراکلریدکربن. *** نشان دهنده معنادار بودن ( $P < 0/001$ ) گروه کنترل آسیب نسبت به گروه کنترل نرمال، ■ نشان دهنده معنادار بودن ( $P < 0/05$ ) گروه پیشدرمان با لینالول نسبت به گروه آسیب، NC: گروه کنترل نرمال، Lin-C: گروه کنترل لینالول، CC: گروه آسیب با تتراکلرید کربن، Lin: گروه پیش درمان با لینالول و Sil: گروه پیش درمان با سیلیمارین. ....	۵۸
شکل ۳-۳-اثر پیش درمان با لینالول بر روی میزان اورهی سرم در موشهای آسیب دیده با تتراکلریدکربن. *** نشان دهنده معنادار بودن ( $P < 0/001$ ) گروه کنترل آسیب نسبت به گروه کنترل نرمال، ■ نشان دهنده معنادار بودن ( $P < 0/05$ ) گروه پیشدرمان با لینالول نسبت به گروه آسیب، NC: گروه کنترل نرمال، Lin-c: گروه کنترل لینالول، CC: گروه آسیب با تتراکلرید کربن، Lin: گروه پیشدرمان با لینالول و Sil: گروهپیش درمان با سیلیمارین. ....	۵۹
شکل ۳-۴-اثر پیش درمان با لینالول بر روی میزان اوریک اسید سرم در موشهای آسیب دیده با تتراکلریدکربن. گروه کنترل نرمال، Lin-c: گروه کنترل لینالول، CC: گروه آسیب با تتراکلرید کربن، Lin: گروه پیشدرمان با لینالول و Sil: گروهپیش درمان با سیلیمارین. ....	۶۰

شکل ۳-۵- اثر پیش درمان با لینالول بر روی میزان کراتینین سرم در موشهای آسیب دیده با تتراکلریدکربن. \*\*\* نشان دهندهی معنادار بودن ( $P < 0/001$ ) گروه کنترل آسیب نسبت به گروه کنترل نرمال، ♣ نشان دهندهی معنادار بودن ( $P < 0/05$ ) گروه پیشدرمان با لینالول نسبت به گروه آسیب، NC: گروه کنترل نرمال، Lin-c: گروه کنترل لینالول، CC: گروه آسیب با تتراکلرید کربن، Lin: گروه پیشدرمان با لینالول و Sil: گروه پیش درمان با سیلیمارین. .... ۶۱

شکل ۳-۶- اثر پیش درمان با لینالول بر روی میزان مالوندیآلدهید بافتی در رت‌های آسیب دیده با تتراکلریدکربن. \*\*\* نشان دهندهی معنادار بودن ( $P < 0/001$ ) گروه کنترل آسیب نسبت به گروه کنترل نرمال. ♣♣♣ نشان دهندهی معنادار بودن ( $P < 0/001$ ) گروه پیش درمان با لینالول نسبت به گروه آسیب. NC: گروه کنترل نرمال. Lin-c: گروه کنترل لینالول. CC: گروه آسیب با تتراکلرید کربن. Lin: گروه پیش درمان با لینالول. Sil: گروه پیش درمان با سیلیمارین. .... ۶۲

شکل ۳-۷- اثر پیش درمان با لینالول بر روی میزان توتالآنتیاکسیدان بافتی در موشهای آسیب دیده با تتراکلریدکربن. \*\*\* نشان دهندهی معنادار بودن ( $P < 0/001$ ) گروه کنترل آسیب نسبت به گروه کنترل نرمال، ♣♣♣ نشان دهندهی معنادار بودن ( $P < 0/001$ ) گروه پیشدرمان با لینالول نسبت به گروه آسیب، NC: گروه کنترل نرمال، Lin-c: گروه کنترل لینالول، CC: گروه آسیب با تتراکلرید کربن، Lin: گروه پیشدرمان با لینالول، Sil: گروه پیش درمان با سیلیمارین. .... ۶۳

شکل ۳-۸- A: گروه کنترل نرمال، b- گروه آسیب با تتراکلریدکربن، C- گروه پیش درمان با لینالول و d- گروه پس از درمان با لینالول. .... **Error! Bookmark not defined.**

## فهرست علائم، نشانه ها و اختصارات

ACEI	Angiotensin-converting-enzyme inhibitors
AIN	Allergic interstitial nephritis
AKI	Acute kidney injury
ARB	Angiotensin II receptor blocker
ATN	Acute tubular necrosis
AVP	Arginine vasopressin
AVRP2	Arginine vasopressin receptor 2
CKD	Chronic kidney disease
CKDu	Chronic kidney disease of unknown etiology
DCT	Distal convoluted tubule
EGFR	Estimated Glomerular filtration rate
ENR	Epithelial sodium channel
GFR	Glomerular Filtration Rate
HMG-COA	3-hydroxy-3-methyl glutaryl-COA
JC Cell	Juxtaglomerular juxtaglomerular cell
MR	Magnetic resonance
NAC	N-Acetyl cysteine
NCC	$\text{Na}^+\text{-CL}^-$ cotransporter
NDI	Nephrogenic Diabetes insipidus
NKCC2	Sodium potassiumchloride cotransporter
NSAID	Nonsteroidal nonsteroidal anti-inflammatory drug
OAT	Organic anion transporters
OCT	Organic cation transporters
PCT	Proximal convoluted tubule
PRTA	Proximal renal Tubular acidosis
ROMK	Renal outer medullary $\text{K}^+$ channel
RTA	Renal Tubular acidosis
ROS	Reactive oxygen species
SIADH	Syndrome of inappropriate Antidiuretic Hormonehormone
TAL	Thick ascending limb
TRPM6	Transient receptor potential cation channel
VEGF	Vascular Endothelial Growth factor
WNK	With No lysine=k